بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکدهٔ مهندسی مواد

تهیه و مشخصه یابی فیزیکی- شیمیایی نانو ذرات بیوگلاس و ذرات هیدروکسی آپاتیت طبیعی و مقایسه رفتار زیستی این مواد به روش نوین میکرو/نانو گرماسنجی همدما

رسالهٔ دکترای تخصصی بیومواد

علی دوست محمدی

اساتید راهنما:

دکتر احمد منشی **دکتر رسول صالحی**

1390

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و نوآوریهای ناشی از تحقیق موضوع این رساله متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان و دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

تقدیم به آستان حقیقت

وآنکه وصالش را می‌جویند

وآنکه در آغوشش کشیده‌اند

وآنکه خود، عین حقیقت‌اند...

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده.....6
فصل اول: مقدمه.....7
فصل دوم: مروری بر منابع.....10
2-1- بیوسرامیک ها.....10
2-2- انواع فصل مشترک بیوسرامیک - بافت.....12
2-3- کلاس های زیست فعالی.....15
2-4- ساختار استخوان.....16
2-5- انواع بیوسرامیک ها.....18
2-5-1- شیشه زیست فعال (بیوگلاس).....19
2-5-2- هیدروکسی آپاتیت (HA).....34
2-6- بار سطحی ذرات یا پتانسیل زتا.....38
2-7- گرمازایی بیوسرامیک ها در محیط های آبی.....41
2-8- بررسی و ارزیابی برون تنی عملکرد زیستی بیومواد 42
2-8-1- روش های میکرو/ نانو گرماسنجی برای ارزیابی رفتار سلول ها.....43
2-8-2- توسعه روش های میکرو/ نانو گرماسنجی همدما به منظور ارزیابی رفتار زیستی بیومواد.....44
2-9- آزمون قارچ (مخمر).....46
فصل سوم: روش تحقیق.....47
3-1- تهیه نانوذرات بیوگلاس.....47
3-2- مشخصه‌یابی فیزیکی - شیمیایی ذرات بیوگلاس.....48
3-3- تهیه و استحصال هیدروکسی آپاتیت طبیعی.....52
3-4- مشخصه‌یابی فیزیکی - شیمیایی ذرات هیدروکسی آپاتیت.....53
3- 5- ارزیابی رفتار گرمازایی ناشی از هیدراسیون.....54
3-6- ارزیابی توانایی تشکیل آپاتیت در محلول SBF.....55
3-7- ارزیابی سمیت ذرات بیوسرامیک در تماس با سلول های بنیادی مغز استخوان به روش مرسوم MTT 57
3-8- ارزیابی سمیت ذرات بیوسرامیک در تماس با سلول های غضروفی به روش میکرو/نانو گرماسنجی.....58
3- 8-1- آزمون قارچ.....58
3-8-2- آزمون سلولی (سلول های غضروفی).....58
3-9- آزمون های درون تنی.....60

فصل چهارم: نتایج و بحث.....64
4-1- نتایج مشخصه یابی بیوگلاس.....64
4-1-1- آنالیز عنصری.....64
4-1-2- آزمون پراش پرتو ایکس.....66
4-1-3- ارزیابی ذرات پودر به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی.....67
4-1-4- بررسی زیست فعالی (توانایی تشکیل آپاتیت در SBF).....69
4-1-5- اندازهٔ سطح ذرات.....70
4-1-6- اندازهٔ ذرات.....71
4-1-7- اندازه گیری پتانسیل زتای نانوذرات.....72
4-2- نتایج مشخصه یابی ذرات هیدروکسی آپاتیت طبیعی 74
4-2-1- آنالیز عنصری.....74
4-2-2- ساختار بلوری.....75
4-2-3- ارزیابی ترکیب به کمک FTIR.....77
4-2-4- بررسی میکروساختار هیدروکسی آپاتیت توسط SEM.....78
4-2-5-آزمون BET.....79
4-2-6- اندازه ذرات.....80
4-2-7- پتانسیل زتای ذرات 81
4-3- رفتار گرمازایی هیدراسیون بیوگلاس و هیدروکسی آپاتیت طبیعی.....83
4-4- ارزیابی توانایی تشکیل آپاتیت در محلول SBF.....86
4-5- آزمون های زیست سازگاری و سمیت سنجی بیوسرامیک ها در شرایط برون تنی.....99
4-5-1- تأثیر ذرات بیوسرامیک بر روی رشد و تکثیر سلول های بنیادی مغز استخوان به روش مرسوم MTT.....99
4-5-2- بررسی زیست سازگاری و سمیت سنجی بیوسرامیک ها به روش میکرو/نانو گرماسنجی همدما.....103
4-6- آزمون های درون تنی.....112
4-6-1- مشاهدات میکروسکوپ الکترونی روبشی.....112
4-6-2-نتایج ارزیابی رادیوگرافی.....114
4-6-3- نتایج ارزیابی هیستوپاتولوژی.....116
فصل پنجم: نتیجه گیری.....122
5-1- جمع بندی و نتیجه گیری.....122
5-2- پیشنهادها.....125
مراجع.....126

چکیده:
بیوسرامیک ها به دلیل زیست سازگاری و غالباً زیست فعالی مطلوب، مناسب ترین مواد برای جایگزینی یا ترمیم بافت سخت و حتی بافت نرم بدن انسان به شمار می روند. در سال های اخیر، شیشهٔ زیست فعال (بیوگلاس) به دلیل خواص زیستی و زیست فعالی بالا و توانایی القای تولید و تشکیل استخوان و قابلیت فعال سازی ژن های محرک سلول های استخوانی، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. هیدروکسی آپاتیت نیز که فاز معدنی استخوان به شمار می رود، در انواع طبیعی و مصنوعی آن کاربردی رو به گسترش دارد. در این پژوهش به ساخت و مشخصه یابی فیزیکی- شیمیایی بیوگلاس 63S و هیدروکسی آپاتیت طبیعی (مشتق از استخوان گاو) و بررسی و مقایسه خواص و عملکرد زیستی این بیوسرامیک ها پرداخته شد. نانو ذرات بیوگلاس به روش سل- ژل تهیه شد و هیدروکسی آپاتیت از استخوان گاوی استحصال گردید. آنالیز فازی (XRD) و آنالیز عنصری (XRF و EDXRF) هر دو بیوسرامیک انجام گرفت. سطح مخصوص و اندازه ذرات نیز محاسبه شد. پتانسیل زتای ذرات هر دو بیوسرامیک به کمک الکتروفورز دوپلر (LDE) تعیین و مقایسه شد. میزان گرمای ناشی از هیدراسیون ذرات بیوسرامیک در رطوبت های نسبی مختلف اندازه گیری شد. توانایی تشکیل آپاتیت بر روی ترکیبات مختلفی از مخلوط بیوگلاس- هیدروکسی آپاتیت در محلول شبیه سازی شده بدن (SBF) بررسی شد و تأثیر عملیات حرارتی تف جوشی بر روی این توانایی ارزیابی گردید. طی پژوهش حاضر، روش میکرو/نانو گرماسنجی همدما به منظور ارزیابی سازگاری سلولی بیومواد معرفی شد و ارزیابی سازگاری زیستی و سمیت ذرات در تماس با سلول های غضروفی انسانی به کمک این روش انجام گرفت. این روش نسبت به روش های مرسوم انجام آزمون های برون تنی (*In vitro*) از سادگی و سهولت در انجام آزمون برخوردار است و نتایج آن به شرایط، شیوهٔ اجرا و مهارت انسانی وابستگی ندارد. در نهایت، آزمون های درون تنی (*In vivo*) طراحی و انجام شد و تأثیر ذرات بیوگلاس، هیدروکسی آپاتیت و مخلوط هر دو بر روی رشد بافت سخت استخوان بررسی گردید. آزمون های مشخصه یابی، حصول ذرات بیوگلاس 63S و هیدروکسی آپاتیت طبیعی را تأیید کرد. پتانسیل زتای ذرات بیوگلاس مقادیر منفی تری نسبت به هیدروکسی آپاتیت داشت و گرمای ناشی از هیدراسیون بیوگلاس در رطوبت های نسبی مختلف تقریباً 10 برابر هیدروکسی آپاتیت بود. مخلوط تف جوشی نشده بیوگلاس و هیدروکسی آپاتیت زیست فعالی بیشتری در محلول شبیه سازی شده بدن نسبت به مخلوط تف جوشی شده از خود نشان داد. آزمون های میکرو گرما سنجی زیست سازگاری و عدم سمیت ذرات بیوگلاس و هیدروکسی آپاتیت را در تماس با سلول های غضروفی انسانی تأیید کرد و آزمون قارچ به عنوان یک آزمون مقدماتی و ارزان قیمت پیشنهاد شد. نتایج آزمون های درون تنی توانایی قابل ملاحظه نانو ذرات بیوگلاس و ذرات هیدروکسی آپاتیت را در ترمیم بافت سخت استخوان نشان داد. آزمون های درون تنی همچنین نشان داد که زیست فعالی مخلوط پودری بیوگلاس- هیدروکسی آپاتیت بیشتر از زیست فعالی هر دو بیوسرامیک به تنهایی است. این نتیجه جالب و بسیار مهم، در آزمون های سلولی برون تنی مشاهده نشد.

کلمات کلیدی: نانوذرات بیوگلاس؛ هیدروکسی آپاتیت طبیعی؛ مشخصه یابی فیزیکی-شیمیایی؛ میکروگرماسنجی

فصل اول
مقدمه

آسیب و از کارافتادگی عضو و انواع بیماری ها اغلب منجر به انجام اعمال جراحی ترمیمی یا تعویضی می شوند. هنگامی که شخصی از درد مفصل رنج می برد، تقدم نخست، تسکین درد و بازگشت عاجل به وضعیت مطلوب اولیه است. حصول این مطلوب گاهی با تعویض اجزاء و اعضای دستگاه اسکلتی مانند زانوها، مفاصل ران، اتصالات میان انگشتی، آرنج ها، مهره های ستون فقرات، دندان ها و ترمیم استخوان های فک امکان پذیر خواهد گشت.

بیومواد[1] (ماده زیستی- پزشکی)، هر ماده (به غیر از دارو) یا ترکیبی از مواد است که به صورت طبیعی یا مصنوعی بتواند برای یک دوره از زمان ترمیم، تعویض و یا جایگزین سازی بخشی از بدن موجود زنده استفاده شود [1]. از حدود یک قرن پیش، ظهور و گسترش بیومواد آغاز شده و تاکنون ادامه یافته است و در طی این مسیر، جراحان و مهندسان همواره با مسائل و مشکلات این مواد دست و پنجه نرم کرده اند. در حال حاضر بازار جهانی بیومواد قریب به 24 میلیارد دلار چرخه مالی دارد که بیش از نیمی از آن (55 درصد) به کاربردهای ارتوپدی و دندانی اختصاص یافته است. در سال 2000 میلادی و با یک افزایش 12 درصدی نسبت به سال قبل از آن، ارزش مالی محصولات ارتوپدی در جهان بالغ بر 13 میلیارد دلار بوده است. عواملی نظیر افزایش جمعیت، ترجیح بیماران جوانتر برای استفاده از این محصولات، توسعه و پیشرفت تکنولوژی و درک بهتر از عملکرد اعضای بدن منجر به گسترش و افزایش روز افزون استفاده از محصولات در سال های آینده خواهد شد [2].

فاکتورهای اصلی و کلیدی در استفاده از یک بیوماده، زیست سازگاری[2]، عملکرد زیستی[3] و در دسترس بودن آن است. زیست سازگاری به عنوان اساسی ترین ویژگی بیومواد، به مفهوم پذیرش ماده مصنوعی توسط بدن است. به

1-Biomaterials
2-Biocompatibility
3-Biofunctionality

عبارت دیگر ماده ای زیست سازگار است که سمی نباشد، التهاب، تحریک و حساسیت در بافت و بدن ایجاد نکند و خاصیت سرطان زایی نداشته باشد. عملکرد زیستی، توانایی یک ماده در انجام وظیفه و عملکرد مورد نیاز است و منوط به خواص فیزیکی-شیمیایی و مکانیکی ماده زیستی- پزشکی می باشد. اگرچه خصوصیات فیزیکی، مکانیکی و شیمیایی بعضی از مواد به کار رفته مطلوب تر از دیگر مواد برای کاربرد زیستی است ولی نحوه و مکان استفاده آن ماده نیز بسیار حائز اهمیت است. برای مثال، کاشتنی استخوان باید استحکام فشاری خوبی داشته باشد در حالی که ماده ای که برای جایگزین سازی رباط به کار می رود باید انعطاف پذیری و استحکام کششی خیلی زیاد دارا باشد [1، 2]. اگر از برخی رفتارهای نامطلوب مواد سرامیکی نظیر ترد و شکننده بودن آن ها صرف نظر شود، این دسته از مواد بهترین و ایده آل ترین مواد در کاربردهای زیستی به شمار می روند [1، 4-7]. مسائل و مشکلاتی نظیر خوردگی و آزاد شدن یون های فلزی ناخواسته در بدن در مورد بیومواد فلزی و همچنین عدم اطمینان کافی در مورد زیست سازگاری بیومواد پلیمری و خواص مکانیکی نامطلوب این دسته از مواد، بیوسرامیک ها را همچنان در کانون توجه محققین و مهندسین بیومواد قرار داده است.

شیشه زیستی[1] (بیوگلاس) و هیدروکسی آپاتیت[2] دو نمونه از بیوسرامیک ها هستند که همواره به سبب زیست سازگاری و فعالیت زیستی مناسب مورد توجه پژوهشگران قرار داشته اند [1، 4، 8]. شیشه های زیست فعال با ایجاد یک پیوند شیمیایی قوی پاسخ زیستی مناسبی در فصل مشترک استخوان و بافت نشان می‌دهند و از این رو کاربردهای وسیعی در مصارف پزشکی یافته اند. تلفیق درصدهای وزنی مختلفی از اکسید سیلیسیم (SiO_2)، اکسید کلسیم (CaO) و اکسید فسفر (P_2O_5)، انواع متنوعی از شیشه های زیست فعال را تشکیل می دهد که بسته به درصد حضور این اکسیدها، شیشه زیستی قادر به اتصال با انواع بافت های نرم و سخت بدن و بدون مداخلهٔ بافت فیبری خواهد بود. نتایج تحقیقات گسترده بر روی ترکیبات مختلف شیشه های زیست فعال نشان داده است که استفاده از آن ها به عنوان کاشتنی در بدن انسان، هیچ گونه تأثیر سمی موضعی یا سیستمی ایجاد نکرده و آماس و التهابی در بدن به دنبال نخواهد داشت [1، 9]. نتایج تحقیقات اخیر نشان می دهد که یک کنترل ژنتیکی بر پاسخ سلول های استخوانی به شیشه‌های زیست فعال وجود دارد [3]. تمامی نتایج ارائه شده در تأیید زیست سازگاری و زیست فعالی بیوگلاس، مربوط به میکروذرات آن است که در اکثر موارد از طریق روش های ذوبی مرسوم تولید شده اند. حتی نمونه های تجاری بیوگلاس نیز که به بازار مصرف عرضه شده اند، میکرو ذراتی با کمینه میانگین اندازه 20 میکرومتر هستند. این در حالی است که به تصریح پروفسور هنچ، هرچه ابعاد و اندازه ذرات بیوگلاس کمتر باشد، زیست فعالی آن بیشتر خواهد بود [1، 8]. روش سل- ژل که برای تولید بیوگلاس بکار گرفته شده است، یکی از بهترین روش ها برای تولید نانو ذرات به شمار می رود. محققان این روش را در چند دههٔ گذشته برای اهداف مورد نظر به خدمت گرفته اند و با انجام اصلاحاتی بر روی آن، به عنوان یک فناوری مطلوب و با ارزش اقتصادی معرفی نموده اند. با استفاده از این روش، محصولات مختلف سرامیکی در شکل پودر و با مشخصات خاص، تولید و مورد بهره برداری قرار گرفته اند. شیشه های زیستی در سیستم CaO- SiO_2- P_2O_5 که به روش سل- ژل ساخته می شوند، زیست فعال تر از ترکیبات مشابهی هستند که به روش ذوبی تولید شده اند [1].

1-Bioglass (Bioactive glass)
2-Hydroxyapatite (HA)

هیدروکسی آپاتیت تشکیل دهندهٔ بخش معدنی استخوان انسان است که به چندین روش در خارج از بدن و به صورت مصنوعی قابل تولید است. با این حال در سال های اخیر، نوع طبیعی این ماده که مستقیماً از استخوان استحصال می شود، مورد توجه قرار گرفته است. نیل به تشابه ساختاری و ترکیبی هرچه بیشتر با بخش معدنی استخوان از مهمترین دلایل اقبال به انواع طبیعی هیدروکسی آپاتیت بوده است [2، 10].

تاکنون مقالات متعدد و متنوعی پیرامون ساخت، مشخصه یابی و بررسی عملکرد زیستی ترکیبات مختلف بیوگلاس و هیدروکسی آپاتیت منتشر شده است. پژوهشگران مختلف هر کدام خواص زیستی منحصر به فردی را برای بیوگلاس و هیدروکسی آپاتیت ذکر کرده اند [1، 3، 10]. حتی برخی از پژوهشگران به استفاده همزمان از این دو بیوسرامیک به شکل کامپوزیت یا به صورت ذرات پرکننده در کامپوزیت های پلیمری و فلزی پرداخته اند [11-13]. این در حالی است که مطابق آخرین اطلاعات نویسنده، گزارشی مبنی بر برتری عملکرد زیستی این حضور همزمان در محیط های برون تنی[1] و درون تنی[2] وجود ندارد. از این رو، ارزیابی و به ویژه مقایسه خواص فیزیکی- شیمیایی و زیستی بیوگلاس و هیدروکسی آپاتیت و همچنین بررسی تأثیر حضور همزمان هر دو بیوسرامیک بر روی عملکرد زیستی در محیط های برون و درون تنی، ضروری به نظر می رسد. متفاوت بودن عملکرد زیستی مخلوط بیوگلاس- هیدروکسی آپاتیت نسبت به هر یک از اجزای آن، از مهمترین فرضیات این پژوهش است.

در ارزیابی خواص زیستی برون تنی از روش های مختلفی استفاده شده است. از متداول ترین و معروف ترین این روش ها می توان به MTT[3] و MTS[4] اشاره کرد. هرچند استفاده از این روش ها بسیار رایج و مرسوم است اما همواره معایب و محدودیت هایی نیز متوجه آن ها بوده است [14، 15]. از این رو معرفی و استفاده از روش های نوین سنجش سمیت بیومواد که معایب و محدودیت های روش های موجود را ندارند و در عین سادگی و سهولت انجام، نتایج قابل اعتمادی ارائه می دهند، بسیار مطلوب خواهد بود.

در پژوهش حاضر، پس از ساخت و استحصال نانو ذرات بیوگلاس 63S و هیدروکسی آپاتیت طبیعی، مشخصه یابی کامل فیزیکی- شیمیایی این دو بیوسرامیک، انجام و نتایج به دست آمده ارزیابی و مقایسه شد. سپس ارزیابی سازگاری زیستی ذرات بیوگلاس 63S، هیدرکسی آپاتیت طبیعی و مخلوط بیوگلاس- هیدروکسی آپاتیت طبیعی در محیط های برون تنی به روش مرسوم MTT و همچنین روش نوین میکرو/نانو گرماسنجی همدما[5] انجام شد. در این پژوهش، روش میکرو/نانو گرماسنجی همدما به عنوان یک آزمون مناسب، کامل و در عین حال ساده در بررسی و ارزیابی زیست سازگاری و سنجش سمیت بیومواد در تماس با انواع سلول های انسانی و حیوانی، معرفی و به کار گرفته شد. در نهایت آزمون های درون تنی نیز بر روی بیوسرامیک ها انجام گرفت و ارزیابی و مقایسه نتایج به دست آمده بطور کامل انجام شد.

1-In-Vitro
2-In-Vivo
3-3-3-3-(4,5-Dimethylthiazol-2-Yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide
4-3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium
5-Isothermal micro/nano calorimetry

فصل دوم
مروری بر منابع

2-1- بیو سرامیک ها[1]

از زمانی که بشر دریافت مواد غذایی در مدت زمان طولانی و با کمترین خرابی در ظروف سرامیکی نگهداری و محافظت می شوند، ظهور و حضور سرامیک ها در زندگی انسانی شکل دیگری به خود گرفت [1]. تحولات صورت گرفته در خلال چهل سال گذشته در استفاده و بکارگیری سرامیک‌ها به منظور بهبود کیفی عمر بشر، به ساخت و توسعه سرامیک‌ها برای درمان بیماری و بازسازی صدمات وارده به بدن و ترمیم اعضای سایش یافته بر اثر حرکت انجامید. سرامیک‌هایی که به این منظور استفاده می‌شوند به بیوسرامیک‌ها موسوم هستند [4].

اغلب کاربردهای کلینیکی بیوسرامیک‌ها مرتبط با سیستم اسکلت بدن، استخوان‌ها، مفاصل، دندان‌ها و بازسازی یا بسط و افزایش بافت نرم و سخت است. بیوسرامیک‌ها همچنین برای جایگزینی قسمت‌هایی از سیستم قلب و گردش خون و به ویژه دریچه‌های قلبی مصرف می‌شوند. ترکیب خاصی از شیشه‌ها نیز برای درمان غده‌ها[2] به کار می‌روند [5].

بیوسرامیک ها در انواع شکل‌ها یا فازهای مختلف تولید می‌شوند و عملکرد متفاوتی در ترمیم بدن ارائه می‌کنند. در بسیاری از کاربردها سرامیک‌ها در شکل ماده‌ای تکه‌ای با شکل ویژه مصرف می‌شوند که به آن‌ها کاشتنی[3] عضو مصنوعی[4]، یا وسایل اندام مصنوعی[5] گفته می‌شود. بیوسرامیک‌ها همچنین برای پر کردن فضا و جای خالی به کار

1-Bioceramics
2-Tumors
3-Implant
4-Prostheses
5-Prostheses Device

می‌روند. در شرایط دیگر، سرامیک‌ها به صورت پوشش بر روی یک زیر لایه یا به صورت یک فاز ثانویه در یک ماده مرکب[1] مورد استفاده قرار می‌گیرند تا خواص دو ماده با هم تلفیق شود و مادهٔ جدیدی با خواص مکانیکی بالاتر و خواص شیمیایی زیستی[2] بهتر فراهم گردد [1].

تعداد اندکی از ترکیبات سرامیک کاربرد کلینیکی مناسب داشته‌اند. موفقیت کلینیکی نیاز به حصول همزمان یک فصل مشترک پایدار با بافت پیوندی[3] و یک تطابق و سازگاری عملی مناسب از نظر رفتار مکانیکی با بافتی که باید جایگزین آن شود دارد. تعداد کمی از این مواد این نیاز دو گانه را برای کاربردهای کلینیکی فراهم می‌آورند [6، 7].

از سال 1970 میلادی هنگامی که برای اولین بار مشخص گردید که از خواص ویژه مواد سرامیکی می توان برای تهیه مواد بهتری جهت کاربردهای کاشتنی خاص بهره برداری نمود، قلمرو و زمینه بیوسرامیک ها به طور وسیع و کلان گسترش یافت. کاربرد ابتدایی با توجه به این حقیقت بود که سطوح صاف سرامیک ها پاسخ بافت بسیار اندک و رفتار سایشی مناسب برای سطوح اصطکاکی حاصل می کند. بیوسرامیک ها را می توان در محل هایی که تحت بار مکانیکی پایین باشند به صورت پودر یا جامد تکه ای مصرف کرد. این مواد در حالی که تحت بار گذاری زیاد باشند به شکل پوشش یا به صورت ماده مرکب (کامپوزیت) مورد استفاده قرار می گیرند. در واقع سرامیک هایی که برای درمان بیماری و بازسازی صدمات وارد به بدن و ترمیم اعضای سایش یافته بر اثر حرکت به کار می روند را بیوسرامیک می گویند. بیوسرامیک ها در شکل یا فازهای مختلف ساخته می شوند. جدول 2-1 دسته بندی بیوسرامیک ها را بر این اساس نشان می دهد. آن ها می توانند به صورت تک بلور[4]، بس بلور[5] (آلومین یا هیدروکسی هیدروکسی آپاتیت)، شیشه (شیشه زیستی)، شیشه- سرامیک یا مواد مرکب (پلی اتیلن– هیدروکسی آپاتیت) باشند [8، 9، 10].

شیشه های زیست فعال استحکام پایینی دارند اما به سرعت با استخوان پیوند می خورند و به همین دلیل برای بازسازی، بسط و رشد استخوان و ترمیم ضایعات استخوانی مصرف می شوند. بسیاری از ترکیبات سرامیکی به منظور استفاده در بدن آزمایش شده اند اما تعداد اندکی از آن ها کاربرد کلینیکی مناسب داشته اند. موفقیت کلینیکی نیاز به حصول همزمان یک فصل مشترک پایدار با بافت آگینی و یک تطابق و سازگاری عملی مناسب از نظر رفتار مکانیکی با بافتی که باید جایگزین آن شود دارد [10].

2-2- انواع فصل مشترک بیوسرامیک- بافت

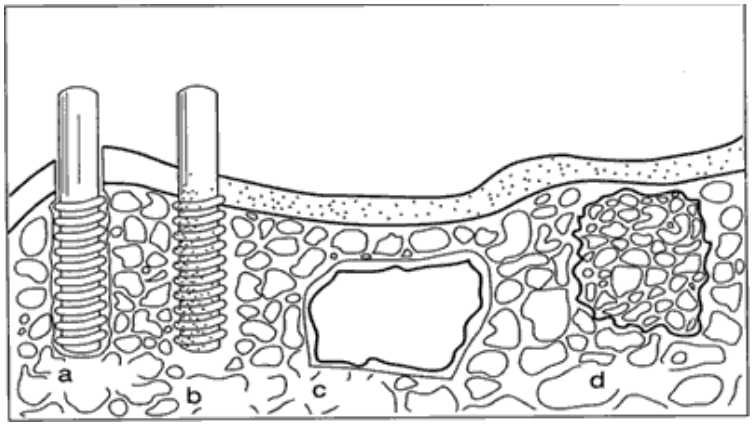
این مسئله که هیچ ماده خارجی در بدن نمی تواند کاملاً سازگار باشد، به عنوان یک اصل پذیرفته شده است. تنها موادی که توسط خود بدن ساخته می شوند (Autogenous)، تطابق کامل با بدن خواهند داشت. هر ماده دیگری که

1-Composite
2-Biochemical
3-Connective Tissue
4-Single crystal
5-Polycrystalline

به عنوان یک عامل خارجی در بدن شناخته شود، منجر به وقوع برخی واکنش ها (پاسخ های میزبان/بافت) خواهد شد. چهار نوع پاسخ بیوسرامیک ها در شکل 2-1 نشان داده شده است [2].
هر نوع پاسخ تعیین کنندهٔ چگونگی اتصال کاشتنی به دستگاه استخوانی- عضلانی بدن است. پاسخی که در فصل مشترک بافت- کاشتنی پدید می آید به عوامل متعددی که در جدول 2-2 ارائه شده است بستگی دارد [10].

جدول 2-1- شکل، فاز و عملکرد بیوسرامیک ها [10].

شکل	فاز	عملکرد
پودر[1]	بس بلور شیشه	پرکننده فضا، خلق مجدد و بازسازی بافت ها
پوشش	بس بلور شیشه شیشه- سرامیک	پیوند بافت، مقاومت در برابر انعقاد خون، حفاظت در برابر خوردگی
تکه، قطعه[2]	تک بلور، بس بلور، شیشه کامپوزیت سرامیک- شیشه (چند فازی)	جایگزین سازی و بازسازی بافت، جایگزین کردن قسمت های عامل



1-Powder
2-Bulk

شکل 2-1- دسته بندی بیوسرامیک ها بر اساس نوع پاسخ آن ها در فصل مشترک استخوان- کاشتنی: (a) کاشتنی دندانی زیست خنثی از جنس آلومینا، (b) هیدروکسی آباتیت زیست فعال پوشش داده شده بر روی کاشتنی دندانی فلزی، (c) بیوگلاس، (d) کاشتنی تری کلسیم فسفات زیست جذب شونده [2].

جدول2-2- عوامل مؤثر بر پاسخ فصل مشترک بافت- کاشتنی [1].

طرف بافت	طرف کاشتنی
- نوع بافت	- ترکیب کاشتنی
- سلامتی بافت	- فازهای موجود در کاشتنی
- عمر بافت	- مرزبین فازها
- گردش خون در بافت	- مورفولوژی سطح
- گردش خون در فصل مشترک	- تخلخل سطح
- حرکت در فصل مشترک	- واکنش های شیمیایی
- شدت تثبیت	- شدت تثبیت
- بار مکانیکی	- بار مکانیکی

هنگامی که یک مادۀ مصنوعی داخل بدن قرار می گیرد، بسته به نوع ماده بافت به طرق مختلفی در مقابل این کاشتنی واکنش نشان می دهد. مکانیزم واکنش و عکس العمل بافت به پاسخ بافت در مقابل سطح کاشتنی بستگی خواهد داشت. بطور کلی، پاسخ های بافتی به یک بیوماده را می توان تحت سه عنوان زیست خنثی[1]، زیست فعال[2] و زیست جذب شونده[3] بررسی نمود. مقالات مروری متعددی به تفصیل و شرح این پاسخ های بافتی پرداخته اند [1، 2].

1. زیست خنثی:

دسته ای از بیومواد هنگامی که در بدن انسان قرار می گیرند، حداقل پاسخ و برهمکنش بافتی را به همراه خواهند داشت. علاوه بر بیومواد فلزی و پلیمری، آلومینا و زیرکونیا نیز از این دسته اند. عمومی ترین پاسخ و واکنش بافت به حضور این مواد، تشکیل یک پوسته رشته ای یا کپسول فیبروزه غیر چسبنده در اطراف آن است. به عنوان یک عکس العمل دفاعی، بافت رشته ای لیفی[4] در اطراف کاشتنی و به منظور مجزا سازی آن از محیط اطراف تشکیل می گردد. ضخامت لایۀ رشته ای به عواملی که در جدول 2-2 ارائه شد بستگی خواهد داشت. خنثی بودن شیمیایی آلومین و زیرکونیوم منجر به ایجاد یک لایه رشته بسیار نازک تحت شرایط بهینه می شود. کاشتنی های فلزی که از نظر شیمیایی بسیار فعال تر هستند سبب ایجاد لایه

2-Bioinert
3-Bioactive
1-Bioresorbable
4-Fibrous Tissue

ضخیم تری می شوند. در هر حال باید توجه داشت که ضخامت لایه رشته ای سطحی (در سطح) به تحرک یا ثابت بودن در فصل مشترک نیز بستگی دارد (شکل 2-1) [2، 10].

2. زیست فعال:

زیست فعالی خاصیت ماده ای است که پس از قرارگیری در داخل بدن، با بافت سخت استخوانی و حتی در برخی موارد بافت نرم اطراف خود واکنش و برهمکنش خواهد داشت. هنگامی که مادۀ زیست فعال در میان استخوان زنده کاشته شود، پیوندی در فصل مشترک بافت- کاشتنی پدید می آید. پیوند تشکیل شده در سطح از جابجایی و حرکت بین دو ماده جلوگیری می کند و همانند نوعی از فصل مشترک است که هنگام ترمیم بافت های طبیعی توسط خود آن ها تشکیل می شود. این نوع فصل مشترک نیاز به موادی دارد که آهنگ فعالیت های شیمیایی کنترل شده ای داشته باشد. ویژگی مهم یک فصل مشترک زیست فعال این است که با گذشت زمان تغییر می کند، درست همان گونه که بافت های طبیعی در حالت تعادل دینامیکی تغییر می کنند. پس از آن، یک تبادل یونی میان کاشتنی زیست فعال و سیالات احاطه کنندۀ آن در بدن، منجر به تشکیل یک لایۀ بیولوژیکی فعال به نام کربنات آپاتیت بر روی کاشتنی خواهد شد که از نظر شیمیایی و ساختار بلوری شبیه فاز معدنی استخوان است. هیدروکسی آپاتیت مصنوعی چگال[1]، شیشه سرامیک A-W و شیشه های زیست فعال نمونه هایی از این مواد به شمار می روند [2، 10].

3. زیست جذب شونده:

ماده ای زیست جذب شونده است که پس از قرارگیری داخل بدن، شروع به انحلال (جذب) کرده و به کندی توسط بافت پیشرونده (مثل استخوان) جایگزین می شود. به عبارت دیگر، هنگامی که نرخ تغییر فصل مشترک زیست فعال به اندازۀ کافی سریع است، ماده کاشتنی پس از انحلال و جذب، توسط مایعات بدن تجزیه شیمیایی و یا توسط یاخته بیگانه خوار درشت[2] حل می گردد. محصولات حاصل از تجزیه و اضمحلال باید نوعی ترکیبات شیمیایی باشد که خاصیت سمی نداشته و بتواند به آسانی و بدون آسیب رساندن به سلول ها مصرف شود [2]. کاشتنی های قابل جذب[3] یا کاشتنی های نوع سوم، برای حل شدن تدریجی با گذشت زمان و جایگزین شدن با بافت طبیعی طراحی شده اند. ضخامت بسیار اندک یا عدم وجود فصل مشترک، نتیجه نهایی است. آهنگ جذب باید با آهنگ ترمیم بافت های بدن هماهنگی و سازگاری داشته باشد که عمدتاً بستگی به عوامل ذکر شده در جدول 2-2 دارد. برخی از مواد به سرعت حل می شوند و برخی به آرامی اضمحلال می یابند. مقادیر زیادی از ماده باید توسط سلول ها مصرف شوند. بنابراین اجزاء یک کاشتنی قابل جذب باید از نظر متابولیسم[4] قابل پذیرش باشند. این مطلب محدودیت مهمی برای ترکیبات قابل مصرف محسوب می شود. از مثال های معروف این گروه می توان به

1-Dense synthetic Hydroxyapatite
2-Macrophages
3-Resorbable
4-Metabolism

تری کلسیم فسفات[1] و کوپلیمرهای پلی لاکتیک- پلی گلایکولیک اسید اشاره کرد (شکل 2-1) [10]. سه نوع تماس بین بافت و انواع بیوسرامیک ها در جدول 2-3 خلاصه شده است [10].

جدول2-3- انواع تماس بافت اندام های مصنوعی بیوسرامیکی [10].

نوع کاشتنی	نوع تماس	مثال
1- تقریباً خنثی	قفل شدن مکانیکی (تثبیت با شکل هندسی)	آلومین، زیرکون
2- زیست فعال	پیوند با بافت در فصل مشترک (تثبیت زیست فعال)	شیشه زیست فعال سرامیک- شیشه زیست فعال، هیدروکسی آپاتیت
3- قابل جذب	جایگزین شدن با بافت	تری کلسیم فسفات، شیشه های زیست فعال

2-3- کلاس های زیست فعالی

در میان انواع برهمکنش های کاشتنی- بافت، مطلوب ترین و جذاب ترین پاسخ، زیست فعالی یا فعالیت زیستی کاشتنی است. زیست فعالی خود به درجات و کلاس های چندگانه ای تقسیم می شود. پیش از پرداختن به شرح کلاس های زیست فعالی، به توضیح و تعریف چند واژه و اصطلاح مفید اشاره می شود [3، 16].

1. هدایت استخوانی[2]

حضور بیوماده موجب فراهم آمدن داربستی جهت رشد بافت استخوانی اطراف می شود و بدین وسیله فرآیند تکثیر سلول های استخوانی تسهیل می گردد. در این حالت رشد استخوان معیوب از گوشه ها و زوایای نقص استخوانی آغاز و ادامه میابد. در هدایت استخوانی، استخوان روی یک سطح رشد می کند. یک سطح هدایت کنندهٔ استخوان[3] به سلول های استخوانی اجازه خواهد داد که درون تخلخل ها، کانال ها و مجاری سطح رشد کنند. در این حالت استخوان در پروسه رشد از سطح ماده تبعیت خواهد کرد. موادی که موجبات هدایت استخوانی را فراهم نسازند، انضمام و اتصال مناسبی نیز با بافت نخواهند داشت.

2. القای استخوانی[4]

1-TCP
2-Osteoconduction
3-Osteoconductive
4-Osteoinduction

هرگاه سلول های اولیه و تمایز نیافتهٔ استخوانی بگونه ای تحریک شوند که به ردهٔ سلول های تشکیل دهنده استخوان ارتقا پیدا کنند، القای استخوانی روی داده است. این سلول های تمایز نیافته در تمامی بافت های استخوانی وجود دارند و حجم استخوان تازه تشکیل شده به میزان این سلول ها بستگی خواهد داشت. در القای استخوانی، سیگنال های القایی منجر به تغییر فنوتیپ[1] سلول های مادر اولیه[2] به سلول های استخوانی[3] می شوند. در برخی موارد ممکن است کاشتنی دارای خاصیت القای استخوانی نباشد ولی پس از کاشت، القای استخوانی روی دهد. وارد شدن هرگونه آسیب به استخوان، آن را مجبور به بازسازی می کند و بازسازی از القای تمایز سلولی آغاز می گردد.

3. تثبیت استخوانی[4]

از منظر بافت شناسی، تحکیم و استقرار مستقیم و بلاواسطهٔ کاشتنی به کمک تشکیل یک بافت استخوانی پیرامون آن و بدون رشد بافت فیبری در فصل مشترک استخوان و کاشتنی، تثبیت استخوانی نامیده می شود. تعریف بهتر و کامل تری نیز در حوزهٔ بیومکانیک ارائه می شود و در آن تثبیت استخوانی به فرایندی اطلاق می شود که از طریق آن، تثبیت مستحکم بیوماده حاصل و در طول بارپذیری استخوان حفظ می شود. ذکر این نکته لازم است که تثبیت استخوانی یک پدیدهٔ مستقل نیست و به هدایت و القای استخوانی پیش از خود وابسته است.

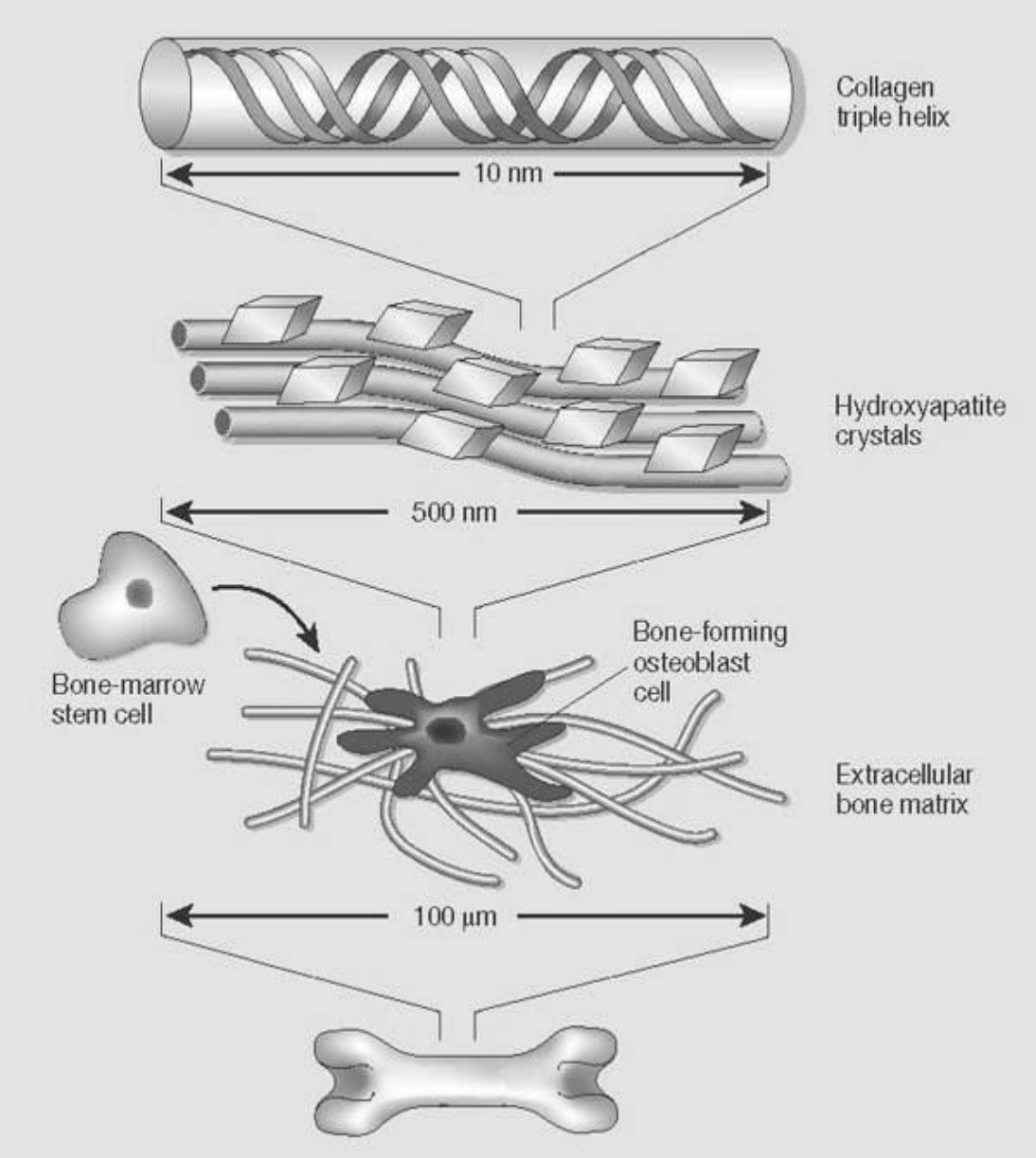
اکنون و با توجه به تعاریف فوق، زیست فعالی و مواد زیست فعال را می توان به دو کلاس A و B تقسیم کرد [1، 3] :
کلاس B زیست فعالی: ماده ای زیست فعال کلاس B است که تنها دارای فاکتورهای خارج سلولی[5] برای رشد بافت استخوانی باشد. موادی که قابلیت هدایت استخوانی دارند در این گروه قرار می گیرند. بارزترین نمونهٔ این دسته از مواد، هیدروکسی آپاتیت سنتزی است.
کلاس A زیست فعالی: مواد زیست فعال کلاس A، فاکتورهای خارج سلولی و داخل سلولی[6] لازم برای رشد استخوان را توأمان دارا هستند. از جمله فاکتورهای خارج سلولی می توان به جذب شیمیایی پروتئین های رشد استخوان بر روی سطح کاشتنی اشاره کرد. قابلیت آزادسازی و انتشار سیلیکای قابل حل و تأثیر بر تکثیر سلول های استخوانی نیز از جمله فاکتورهای داخل سلولی به شمار می روند. سرگروه مواد زیست فعال کلاس A، شیشهٔ زیست فعال یا همان بیوگلاس معروف است.

2-4- ساختار استخوان

4-Phenotype
2-Osteoprogenitor
3-Osteocyte
4-Osseointegration
5-Extracellular factors
6-Intracellular factors

چون کاشتنی‌های بیوسرامیکی در ارتباط با استخوان هستند، آگاهی یافتن از اجزاء تشکیل دهندهٔ استخوان لازم به نظر می‌رسد. یکی از اجزاء اصلی استخوان کلاژن[1] است که 20 درصد وزنی آن را تشکیل داده است. این جزء شبیه به ژلاتین بوده و دارای سختی زیاد و انعطاف پذیری خوب می‌باشد. کلاژن به صورت فیبرهای بسیار کوچکی وجود دارد که قطر آن‌ها از 100 تا 2000 نانومتر متغیر است (شکل 2-2). کلسیم فسفات جزء اصلی سازندهٔ استخوان بوده که 69 درصد وزنی استخوان را تشکیل می‌دهد و به دو صورت هیدروکسی آپاتیت کریستالی و آمورف وجود دارد. این جزء بخش معدنی استخوان محسوب می‌شود و سختی استخوان به دلیل وجود این جزء است. آب نیز از جمله مواد تشکیل دهندهٔ استخوان است که 9 درصد وزنی استخوان را تشکیل می‌دهد. مقادیر کمی از گلیکوپروتئین ها[2] و پرتئوگلیکان ها[3] نیز در ساختمان نهایی استخوان وجود دارد (جدول2-4) [2].

1-Collagen
2-Glycoproteins
3-Proteoglycans



شکل 2-2- اجزای اصلی و ساختمان داخلی استخوان انسان [2].

جدول 2-4- گلیکوپروتئین ها و پرتئوگلیکان های موجود در استخوان [2].

گلیکوپروتئین ها	پرتئوگلیکان ها

Decorin	Osteopontin
Biglycan	Osteonectin
Fibromodulin	Bone Sialoprotein
	Alkaline Phosphatase
	Fibronectin
	Vitronectin
	Thrombospondin

2-5- انواع بیو سرامیک ها

بیوسرامیک ها از نظر ترکیب به انواع و اقسام مختلفی چون آلومینا (Al_2O_3)، زیرکونیا (ZrO_2)، ترکیبات کربن و کامپوزیت های آن، شیشه های زیست فعال (باترکیبی از Na_2O-CaO-P_2O_3-SiO_2)، هیدروکسی آپاتیت ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) و تری کلسیم فسفات تقسیم بندی می شوند. در این میان، شیشه های زیست فعال (بیوگلاس) و هیدروکسی آپاتیت در محیط فیزیولوژیکی، خواص زیست فعالی به مراتب بهتری از خود نشان می دهند [1، 10]. در سال های اخیر درصد قابل توجهی از پژوهش های پیرامون بیوسرامیک ها معطوف به بیوگلاس و هیدروکسی آپاتیت بوده است. ترکیبات مختلف بیوگلاس و انواع مصنوعی و طبیعی هیدروکسی آپاتیت به اشکال مختلف و با توجه به کاربردهای خاص مورد توجه و ارزیابی قرار گرفته اند. پیشنهاد استفاده از این مواد به عنوان پوشش و اجزای ثانویه در ساخت کامپوزیت های فلزی و پلیمری نیز موجب اقبال خیل عظیمی از پژوهشگران علم مواد به این سمت و سو گشته است [1، 12، 18].

فسفات کلسیم نیز به عنوان استخوان مصنوعی[1] مورد استفاده قرار گرفته است. این ماده در محیط فیزیولوژیکی[2] زیست اضمحلال است و به صورت مصنوعی تهیه شده و برای تولید انواع مختلف کاشتنی ها و یا جهت پوشش متخلخل یا یکپارچه بر روی کاشتنی ها مصرف شده است [1، 10].

در این فصل به بررسی و مطالعه دو دسته از شاخص ترین سرامیک های زیستی یعنی بیوگلاس و هیدروکسی آپاتیت پرداخته می شود.

2-5-1- شیشهٔ زیست فعال (بیوگلاس)

1-Artificial bone
2-Physiological Solution